

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-292572

(43)Date of publication of application : 11.11.1997

(51)Int.Cl.

G02B 21/16

G01N 21/64

G02B 21/06

G02B 21/34

(21)Application number : 08-129004

(71)Applicant : NIKON CORP

(22)Date of filing : 24.04.1996

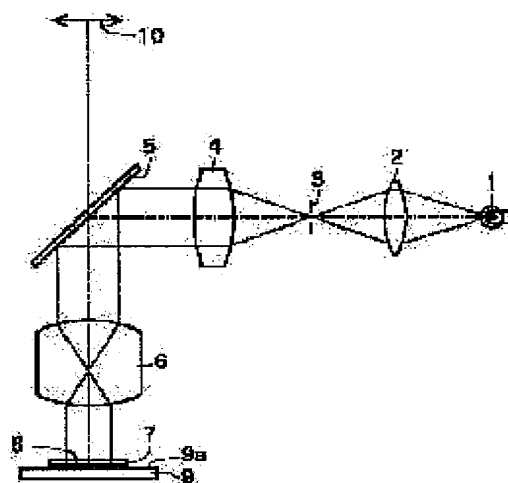
(72)Inventor : SUDO TAKESHI  
MIZUSAWA MASAYUKI

## (54) VERTICAL ILLUMINATION TYPE FLUORESCENCE MICROSCOPE

## (57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To efficiently use excitation light irradiating a sample and to obtain a bright fluorescence image by providing a reflection surface so that the excitation light transmitted through the sample may be restored to the sample again.

**SOLUTION:** The excitation light from a light source 1 is formed into an image by a collector lens 2, transmitted through a relay lens 4, reflected by a dichroic mirror 5, and made incident on an objective lens 6 functioning also as a condenser lens. After it is formed into the image again at the pupil position of the lens 6, it illuminates the sample 8 placed on a slide glass 9. The sample 8 receives the excitation light and emits fluorescence, and then the fluorescence is transmitted through the lens 6 and the mirror 5 and formed into the fluorescence image 10. Furthermore, after the excitation light illuminates the sample 8, it is reflected by the reflection surface 9a of the slide glass 9, made incident on the sample 8 again and illuminates the sample. The fluorescence arriving at the lens 6 out of the fluorescence excited by the excitation light which goes and returns and emitted from the sample 8 is formed into the fluorescence image 10.



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-292572

(43) 公開日 平成9年(1997)11月11日

(51) Int.Cl. <sup>8</sup>	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 2 B	21/16		G 0 2 B 21/16	
G 0 1 N	21/64		G 0 1 N 21/64	E
G 0 2 B	21/06		G 0 2 B 21/06	
	21/34		21/34	

審査請求 未請求 請求項の数 5 F D (全 3 頁)

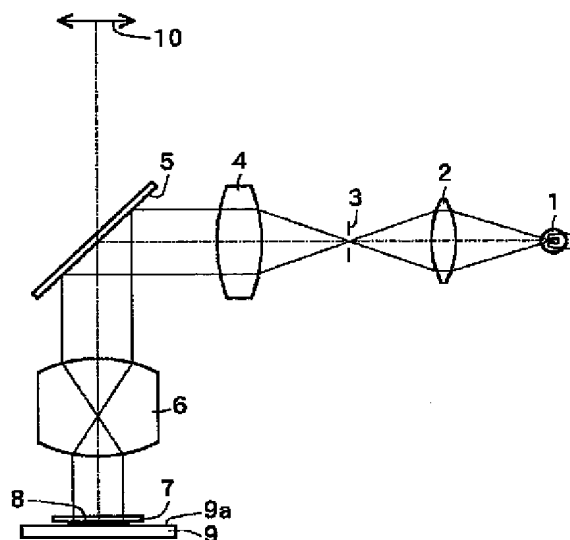
(21) 出願番号	特願平8-129004	(71) 出願人	000004112 株式会社ニコン 東京都千代田区丸の内3丁目2番3号
(22) 出願日	平成8年(1996)4月24日	(72) 発明者	須藤 武司 東京都千代田区丸の内3丁目2番3号 株式会社ニコン内
		(72) 発明者	水澤 聖幸 東京都千代田区丸の内3丁目2番3号 株式会社ニコン内
		(74) 代理人	弁理士 猪熊 克彦

(54) 【発明の名称】 落射型蛍光顕微鏡

(57) 【要約】

【課題】 明るい蛍光像を得ることができる落射型蛍光顕微鏡を提供する。

【解決手段】 落射型蛍光顕微鏡において、試料8を透過した励起光が再度試料8に戻るように、反射面9aを設けたことを特徴とする。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】落射型蛍光顕微鏡において、試料を透過した励起光が再度試料に戻るように、反射面を設けたことを特徴とする落射型蛍光顕微鏡。

【請求項2】前記反射面を、試料を載せるスライドガラスに形成した、請求項1記載の落射型蛍光顕微鏡。

【請求項3】試料を載せるスライドガラスを透過した励起光を反射させる位置に、前記反射面を配置した、請求項1記載の落射型蛍光顕微鏡。

【請求項4】前記反射面を、曲率中心がほぼ前記試料の位置にある凹面鏡によって形成した、請求項3記載の落射型蛍光顕微鏡。

【請求項5】前記反射面の反射率特性は、励起光に対する反射率が蛍光に対する反射率よりも大きい、請求項1、2、3又は4記載の落射型蛍光顕微鏡。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は蛍光顕微鏡に関し、特に落射型の蛍光顕微鏡に関する。

【0002】

【発明が解決しようとする課題】試料に励起光を照射し、試料から発生する励起光よりも長い波長の蛍光を観察することにより、試料の特性を調べる蛍光顕微鏡が広く用いられてきている。蛍光顕微鏡には、励起光の照射の仕方によって、コンデンサーレンズを用いる透過型と、対物レンズ自体を照明系として兼用する落射型がある。現在は落射型が主流であり、コンデンサーレンズを兼ねる対物レンズから出た照明光は、試料を照明して透過し、その後の励起光は特に利用されていない。

【0003】蛍光顕微鏡では明るい蛍光像を得ることが困難である。これは、試料を360nm、400nm、440nm等の種々短波長を励起光として照射し、試料からの微弱な蛍光を観察するためである。このように試料から発する蛍光の光量が微弱であるため、写真撮影時の露光時間が長くなり、震動の影響を受けやすい等の欠点がある。そのため、様々な光学的考慮によって、明るい蛍光像を得るための努力がなされている。例えば光源として、強い励起光を発する高輝度水銀ランプを使用したり、また試料からの蛍光を効率良く取り入れるため、結像系の対物レンズの開口数(N.A.)を大きくしたりしている。しかしながら未だ必ずしも十分な明るさの蛍光像を得るに至っているとはいえない。したがって本発明は、試料を照射する励起光を効率良く使用し、明るい蛍光像を得ることができる落射型蛍光顕微鏡を提供することを課題とする。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明は上記課題を解決するためになされたものであり、すなわち、落射型蛍光顕微鏡において、試料を透過した励起光が再度試料に戻るように、反射面を設けたことを特徴とする落射型蛍光

顕微鏡である。

【0005】

【発明の実施の形態】本発明の実施の形態を図面によって説明する。図1は本発明の第1実施例を示し、光源1からの励起光はコレクタレンズ2によって結像しており、その結像位置には開口絞り3が配置されている。光源像を結像した励起光は、更にリレーレンズ4を透過し、ダイクロイックミラー5によって反射して、コンデンサーレンズを兼ねる対物レンズ6に入射し、対物レンズ6の瞳位置に再結像した後に、試料8を照明している。この構成はケーラー照明となっている。

【0006】試料8はスライドガラス9上に載置されており、試料8上にはカバーガラス7が被せてある。試料8は励起光を受けて蛍光を発し、この蛍光は対物レンズ6とダイクロイックミラー5を透過して蛍光像10として結像している。ダイクロイックミラー5は、短波長である励起光は反射し、長波長である蛍光は透過する特性に形成されている。またスライドガラス9の試料8側の面9aには、図2に示すように、短波長である励起光は反射し、長波長である蛍光は透過又は吸収する特性の蒸着膜が塗布されている。

【0007】本実施例は以上のように構成されており、励起光は試料8に入射して試料を照明した後に、スライドガラス9の反射面9aで反射して、再度試料8に入射して試料を照明する。その後励起光は対物レンズ6を透過し、ダイクロイックミラー5によって反射するから、励起光が蛍光像10に至ることはない。往復の励起光によって励起されて試料8からは蛍光が発せられ、この蛍光のうち、対物レンズ6に至る蛍光は蛍光像10として結像する。またこの蛍光のうち、スライドガラス9の反射面9aに至る蛍光については、スライドガラス9の蒸着膜の反射率が低いから、蛍光像10のコントラストを劣化させることがない。

【0008】かくして本実施例によれば、試料8は往復2回にわたって励起光によって励起されるから、往復の励起光のみによって励起していた従来例と比較して、ほぼ2倍の明るさの蛍光像10を得ることができる。なお本実施例ではスライドガラス9の試料8側の面に反射面9aを形成したが、試料8の反対側の面を反射面とすることもできるし、またスライドガラス9の下方に、スライドガラス9とは別体として反射面を設けることもできる。

【0009】次に図3は第2実施例を示し、この実施例では、スライドガラス9には反射面は設けておらず、スライドガラス9の下方に、スライドガラス9とは別体として反射面を設け、その反射面として、曲率中心がほぼ試料8の位置にある凹面鏡11を用いたものである。このような構成によっても、上記第1実施例と同様の効果を得ることができる。

【0010】

【発明の効果】以上のように本発明によれば、従来の落射型蛍光顕微鏡に簡単な要素を付加するだけで、従来の照明法に比較して2倍程度の照射効率の向上が図られ、したがって明るい蛍光像を得ることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の第1実施例を示す構成図

【図2】スライドガラスの反射面の反射率特性を示す図

【図3】第2実施例を示す構成図

\*【符号の説明】

1…光源

3…開口絞り

5…ダイクロイックミラー

7…カバーガラス

9…スライドガラス

10…蛍光像

2…コレクタレンズ

4…リレーレンズ

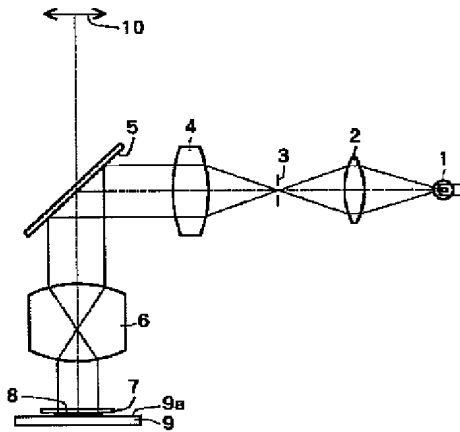
6…対物レンズ

8…試料

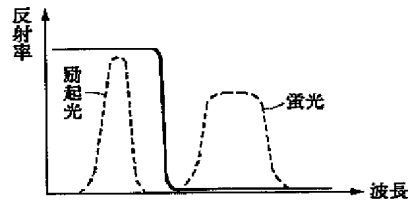
9a…反射面

11…凹面鏡

【図1】



【図2】



【図3】

